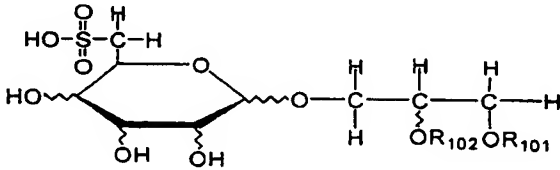


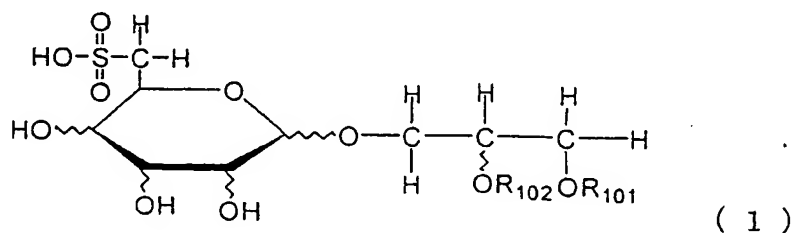


## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<b>(51) 国際特許分類7</b> A61K 31/7032, A61P 35/00, 43/00 // C07H 15/06	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b>  <b>WO00/51622</b>  <b>(43) 国際公開日</b>  2000年9月8日(08.09.00)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP00/00973 <b>(22) 国際出願日</b> 2000年2月21日(21.02.00) <b>(30) 優先権データ</b> 特願平11/51397 1999年2月26日(26.02.99) <b>JP</b> <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> 東洋水産株式会社(TOYO SUISAN KAISHA, LTD.)(JP/JP) 〒108-8501 東京都港区港南2丁目13番40号 Tokyo, (JP) <b>(72) 発明者 ; および</b> <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 山崎隆之(YAMAZAKI, Takayuki)(JP/JP) 〒278-0022 千葉県野田市山崎2712-56 邦和荘106号室 Chiba, (JP) 菅原二三男(SUGAWARA, Fumio)(JP/JP) 〒352-0012 埼玉県新座市畑中1-11-3-213 Saitama, (JP) 太田慶祐(OHTA, Keisuke)(JP/JP) 〒278-0022 千葉県野田市山崎2701-1 チサンマンション野田410号 Chiba, (JP) 正木和好(MASAKI, Kazuyoshi)(JP/JP) 〒350-0203 埼玉県坂戸市横沼345-1 Saitama, (JP)		<b>(74) 代理人</b> 鈴江武彦, 外(SUZUYE, Takehiko et al.) 〒100-0013 東京都千代田区霞が関3丁目7番2号 鈴榮内外國特許法律事務所内 Tokyo, (JP)  <b>(81) 指定国</b> AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)  添付公開書類 国際調査報告書
<b>(54)Title: DRUGS CONTAINING SULFOPYRANOSYLACYLGLYCEROL DERIVATIVES</b> <b>(54)発明の名称</b> スルホピラノシルアシルグリセロール誘導体を含有する医薬 <div style="text-align: center;"><span style="float: right;">(1)</span></div> <b>(57) Abstract</b> Drugs each containing as the active ingredient at least one member selected from the group consisting of compounds represented by general formula (1) and pharmaceutically acceptable salts thereof: wherein R <sub>101</sub> is an acyl residue derived from an unsaturated higher fatty acid; and R <sub>102</sub> is hydrogen or an acyl residue derived from an unsaturated higher fatty acid.		

(57)要約

次の一般式 ( 1 ) :



(式中、R<sub>101</sub>は、不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表し、R<sub>102</sub>は水素原子または不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表す。)により表される化合物およびその薬学的に許容される塩から成る群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬。

PCTに基づいて公開される国際出願のパフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AG アンティグア・バーブーダ	DZ アルジェリア	LC セントルシア	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LJ リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LR リベリア	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LS レソト	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LT リトアニア	SL シェラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LV ラトヴィア	SZ スワジランド
BE ベルギー	GE グルジア	MA モロッコ	TD チャード
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BR ブラジル	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BY ベラルーシ	GW ギニア・ビサオ		TT トリニダード・トバゴ
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TZ タンザニア
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	MZ モザンビーク	VN ヲトナム
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	YU ユーゴスラヴィア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CY キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZW ジンバブエ
CZ チェッコ	KE ケニア	NZ ニュージーランド	
DE ドイツ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DK デンマーク	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
	KR 韓国	RO ルーマニア	

## 明 細 書

スルホピラノシルアシルグリセロール誘導体を含有する医薬技術分野

本発明は、スルホピラノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬に関する。

## 背景技術

藻類、高等植物等の天然物に含まれる含硫糖脂質には、生理活性を有するものがあることが知られている。

例えば、太田らの文献(Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 46(4), (1998))には、紅藻スギノリから得られる特定のスルホキノボシルジアシルグリセロール誘導体が、高等生物DNA合成酵素 $\alpha$ および $\beta$ の阻害活性並びにHIV由来逆転写酵素阻害活性を示すことが記載されている。太田らの文献に開示されているスルホキノボシルジアシルグリセロール誘導体は、グリセロール部分の1位の炭素にエステル結合する脂肪酸が、二重結合5個を含む炭素数20の不飽和脂肪酸であり、2位の炭素に結合する脂肪酸が、炭素数16の飽和脂肪酸である。

また、水品らの文献(Biochemical Pharmacology, 55, 537-541, (1998))には、シダ植物から得られる特定のスルホキノボシルジアシルグリセロール誘導体の混合物が、子ウシDNA合成酵素 $\alpha$ 型およびラットDNA合成酵素 $\beta$ 型への阻害活性を示すが、HIV由来逆転写酵素活性には影響を及ぼさないことが記載されている。

一方、佐原らの文献(British Journal of Cancer, 75(3), 324-332, (1997))には、ウニ腸管からのアセトン抽出物に含まれるスルホキノボシルモノアシルグリセロール画分が、イン・ビボおよびイン・ビトロで制癌作用を示すことが記載されている。しかしながら、佐原らが制癌作用を見いだしたスルホキノボシルモノアシルグリセロール画分は、炭素数16の飽和脂肪酸がエステル結合したスルホキノボシルモノアシルグリセロールを主成分として含むものである。このスルホキノボシルモノアシルグリセロール画分中、脂肪酸のアシル部分が不飽和脂肪酸のアシル残基であるものは、極めて微量にしか含まれていない。さらに、佐原らは、制癌活性を見いだしたスルホキノボシルモノアシルグリセロール混合物が含有する個々の成分についての制癌活性については検討していない。

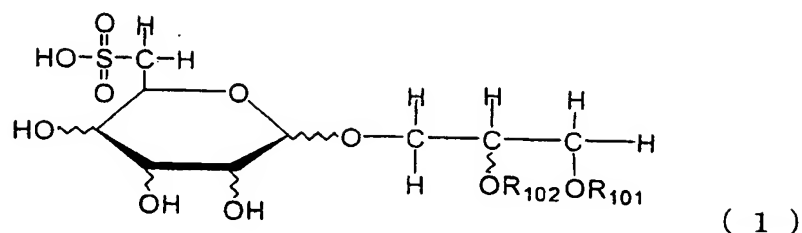
さらに、特表平5-501105号には、スルホキノボシルジアシルグリセロール誘導体が抗ウイルス活性、具体的には、抗ヒト免疫不全ウイルス活性を有することが記載されているが、DNA合成酵素阻害活性や抗癌活性を有することは記載されていない。

#### 発明の開示

そこで、本発明は、スルホピラノシルアシルグリセロール誘導体を有効成分として含有する医薬を提供することを目的とする。

本発明者らは、特定のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体に医薬活性があることを見い出し、本発明を完成し

た。すなわち、本発明は、次の一般式（１）：



発明を実施するための最良の形態

本明細書において、保護基の「炭素数」とは、当該保護基を非置換としてみなした場合の炭素原子の数をいう。従って、例えば、 $R^6$ により表される基が置換アルキル基である場合、その炭素数とは、当該アルキル基に置換する置換基の炭素原子を含まない、アルキル基の骨格部分の炭素原子の数をいう。保護基がアルキル基以外の場合についても同様である。

まず、本発明の医薬が有効成分として含有する一般式(1)で表されるスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体について詳細に説明する。

上記一般式(1)のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体において、ピラノシドを構成する糖骨格であるピラノースには、 $\alpha$ -D-キノボース(6-デオキシ- $\alpha$ -D-グルコース)、 $\beta$ -D-キノボース(6-デオキシ- $\beta$ -D-グルコース)、 $\alpha$ -D-フコース(6-デオキシ- $\alpha$ -D-ガラクトース)、 $\beta$ -D-フコース(6-デオキシ- $\beta$ -D-ガラクトース)、 $\alpha$ -D-ラムノース(6-デオキシ- $\alpha$ -D-マンノース)、 $\beta$ -D-ラムノース(6-デオキシ- $\beta$ -D-マンノース等)が含まれる。

グリセロール部分の2位の炭素(不斉炭素)における絶対配置は、S又はRの何れでもよい。

これらピラノシドの糖骨格は、舟形、いす型のいずれの配置をもとり得る。しかしながら、いす型のもののほうが、安定性の観点から好ましい。

上記一般式（１）のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体において、 $R_{101}$ は、不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表す。

$R_{101}$ により表される不飽和高級脂肪酸のアシル残基を提供する脂肪酸には、直鎖状又は分岐状の、不飽和高級脂肪酸が含まれるが、一般式（１）で表される化合物を医薬として用いる観点から、直鎖状の不飽和高級脂肪酸が好ましい。

直鎖状の不飽和高級脂肪酸のアシル残基は、炭素数 14 ～ 26（好ましくは、14 ～ 26 の偶数）、不飽和結合数 1 ～ 6 を有するものである。すなわち、直鎖状の不飽和高級脂肪酸のアシル残基は、式： $R-C(=O)-$ （式中、 $R$ は炭素数 13 ～ 25（好ましくは、13 ～ 25 の奇数）の、直鎖状脂肪族不飽和炭化水素基であり、この炭化水素基には不飽和結合が 1 ～ 6 個含まれる。）で表される。

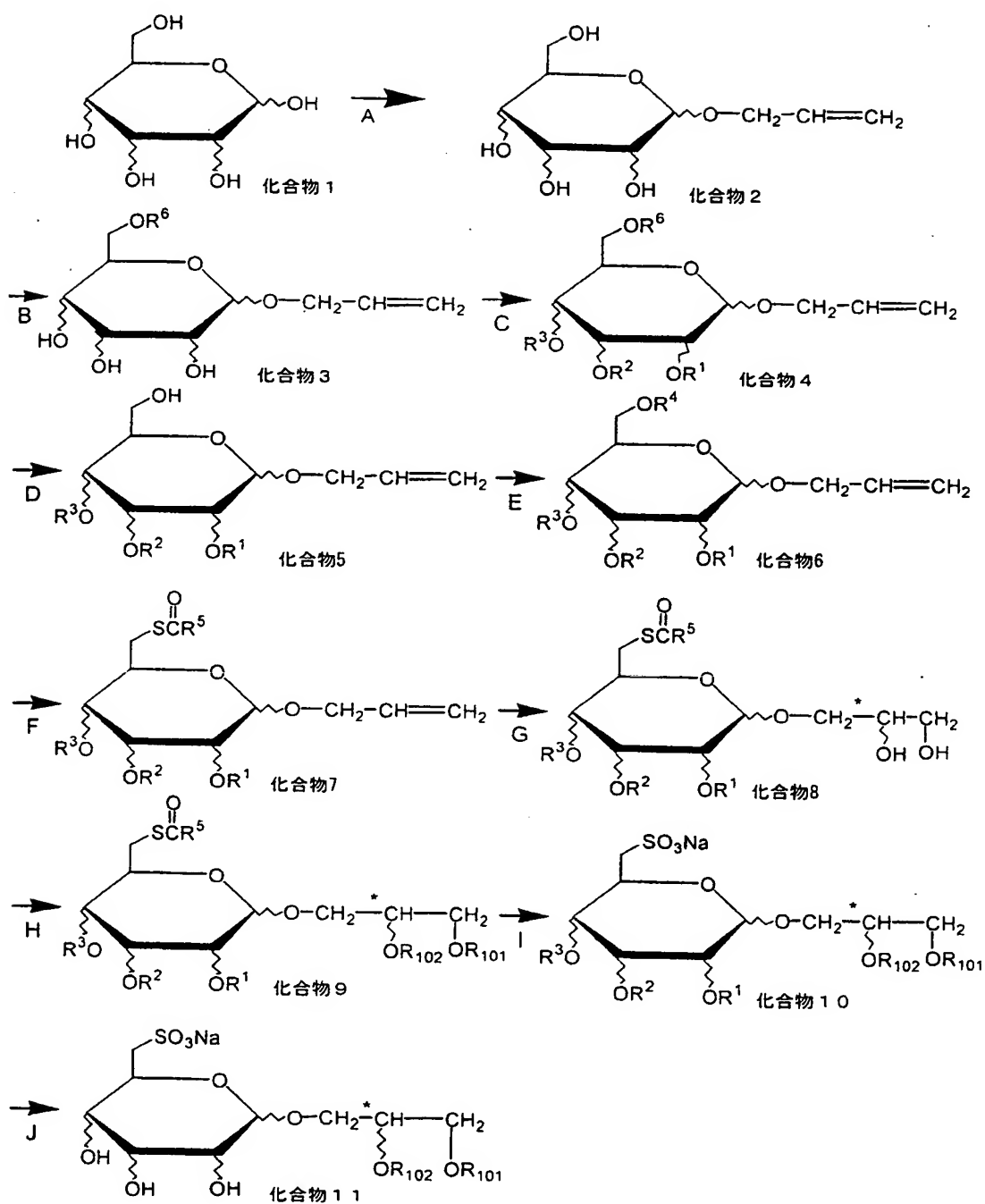
上記一般式（１）のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体において、 $R_{102}$ は、水素原子または不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表す。特に、制癌活性の点から  $R_{102}$  は水素原子であることが好ましい。 $R_{102}$  が不飽和高級脂肪酸のアシル残基である場合は、そのアシル残基を提供する脂肪酸として  $R_{101}$  と同義のものを選択することができる。 $R_{101}$  および  $R_{102}$  は互いに同一であっても異なるアシル残基であってもよい。

本発明のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体の製造方法を以下に説明する。

本発明のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体は、

次のスキーム 1 に示す反応式に従い、（工程 A）～（工程 J）を経て製造することができる。

スキーム 1



（工程 A）ピラノースの C 1 炭素に結合する水酸基を 2 -



プロペニル化する。(工程B) ピラノースのC6炭素の水酸基を保護する。(工程C) ピラノースのC2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を保護する。(工程D) 先に保護したC6炭素の保護基を脱保護する。(工程E) C6炭素に結合する水酸基をカルボニルチオ基に変換し得る基(例えば、アルキルスルホニルオキシ基又はアリールスルホニルオキシ基)に置換する。(工程F) C6炭素をカルボニルチオ化する。(工程G) C1炭素に結合する2-プロペニル基をジオール化する。(工程H) 得られたジオールの両方又は1位の水酸基のみを所望の不飽和高級脂肪酸によりエステル化する。(工程I) C6炭素のカルボニルチオ基をスルホン酸塩化する。(工程J) 得られたスルホン酸塩のC2、C3およびC4炭素の保護基を脱保護することにより、塩の形態にある、本発明のスルホピラノシルグリセロール誘導体を製造することができる。このようにして得られた塩は、塩酸等の酸による滴定に供することにより、本発明のスルホピラノシルグリセロール誘導体にする事ができる。

上記工程A～Jをさらに詳細に説明する。

工程Aの2-プロペニル化は、ピラノースとアリールアルコールをトリフルオロメタンスルホン酸等の強酸の存在下に、通常、室温～100℃、好ましくは80℃～90℃の温度で、通常、半日～2日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Bにおいては、C6炭素に結合する水酸基を保護し、C6炭素に-O-R<sup>6</sup>を結合させる(ここで、R<sup>6</sup>は、アルキ

ル基又は置換シリル基を表す。)。

水酸基を保護し得る化合物としては、 $R^6$ により表される基がアルキル基又は置換シリル基になるような化合物を用いることができる。

$R^6$ により表されるアルキル基には、好ましくはかさ高い、置換のアルキル基が含まれる。置換基にはメチル基、フェニル基等が含まれる。置換アルキル基の具体例としては、*t*-ブチル基、トリチル基等を挙げることができる。

$R^6$ により表される基が置換シリル基である場合、置換シリル基の置換基には、低級アルキル基、好ましくは炭素数1～4のアルキル基（例えば、メチル基、エチル基、イソプロピル基、*t*-ブチル基）、およびアリール基、好ましくは炭素数6のアリール基（例えば、フェニル基）等が含まれる。 $R^6$ により表される置換シリル基は、好ましくは3置換のシリル基であり、より好ましくは*t*-ブチルジフェニルシリル基等が含まれる。

工程Bにおける水酸基の保護は、 $R^6$ がアルキル基である化合物3を得る場合、乾燥ピリジン等の有機溶媒に溶解した化合物2の溶液に、 $R^6-X$ で表される化合物（式中、 $R^6$ は上で規定したアルキル基、Xは塩素原子等のハロゲン原子。）を添加し、*p*-ジメチルアミノピリジン（DMA P）等の触媒の存在下に室温で反応させることにより行うことができる。化合物 $R^6-X$ としては、トリチルクロリドが、製造コスト、反応の容易性の観点から好ましく用いられる。

$R^6$ が置換シリル基である化合物3を得る場合、化合物R

6-Xとして *t*-ブチルジフェニルシリルクロリド等を用い、イミダゾール等の触媒の存在下、室温で、通常、半日～2日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Cにおいては、C2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を保護し、それぞれ-OR<sup>1</sup>、-OR<sup>2</sup>および-OR<sup>3</sup>（ここで、R<sup>1</sup>～R<sup>3</sup>は、互いに独立して、アルキル基又は置換シリル基を表わす。）にする。これらの水酸基の保護は、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）等の有機溶媒に溶解した化合物3の、C2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を水素化ナトリウム等により活性化し、水酸基を保護し得る化合物を室温で反応させることにより行うことができる。

水酸基を保護し得る化合物としては、ベンジルブロミド、*p*-メトキシベンジルブロミド、*t*-ブチルジメチルシリルクロリド、トリエチルシリルクロリド等を用いることができる。

これらの水酸基を保護し得る化合物を用いる場合の反応は、それぞれの保護基に適した反応条件により行うことができる。

工程DにおけるC6炭素に結合する保護基の脱保護は、メタノール等の有機溶媒に溶解した化合物4の溶液を、*p*-トルエンスルホン酸等の触媒の存在下に室温で、通常、12時間～1日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程 E においては、化合物 5 の C 6 炭素の水酸基に、 $R^4$ 、すなわちアルキルスルホニル基又はアリースルホニル基を結合させることにより、当該水酸基を  $-OR^4$  に転化して化合物 6 を得る。

この  $-OR^4$  基への反応は、有機溶媒に溶解した化合物 5 の溶液に、アルキルスルホニル基を有する化合物又はアリースルホニル基を有する化合物等を添加し、反応させることにより行うことができる。アルキルスルホニル基を有する化合物のアルキル基としては、好ましくは非置換のアルキル基であって、より好ましくは低級アルキル基、さらにより好ましくは炭素数 1 ～ 2 のアルキル基（メチル基、エチル基）が含まれる。アルキルスルホニル基を有する化合物としては、式： $R^{4'}-X$ （式中、 $R^{4'}$  はアルキルスルホニル基を表し、 $X$  はハロゲン原子を表す。）で表されるものを用いることができ、その具体例を挙げると、メタンスルホニルクロリド、エタンスルホニルクロリド等が含まれる。

一方、アリースルホニル基を有する化合物のアリール基としては、非置換又は置換のアリール基であって、好ましくは炭素数 6 のアリール基（例えば、フェニル基）が含まれる。置換したアリール基の場合、その置換基としては、 $p$ -メチル基、 $p$ -メトキシ基等が含まれる。アリースルホニル基を有する化合物としては、式： $R^{4''}-X$ （式中、 $R^{4''}$  はアリースルホニル基を表し、 $X$  はハロゲン原子を表す。）で表されるものを用いることができ、その具体例を挙げると、 $p$ -トルエンスルホニルクロリド、 $p$ -メトキシベ

ンゼンスルホニルクロリド、ベンゼンスルホニルクロリド等が含まれる。

これらのアルキルスルホニル基又はアリールスルホニル基を有する化合物のうち、トシル基を有するものが反応の容易性の観点から好ましい。

工程 E の反応において、有機溶媒としては、ピリジン、ジクロロメタン等を用いることができる。

上記の反応は、必要に応じて、DMA P 等の触媒の存在下に室温で、通常、2 時間～1 日間で行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程 F において、化合物 6 のスルホニルオキシ基 ( $-OR^4$ ) をカルボニルチオ基 ( $-SC(=O)R^5$  (ここで、 $R^5$  は、水素原子、アルキル基又はアリール基を表す。)) に置換する。

この反応では、有機溶媒中の化合物 6 のアルキルスルホニルオキシ基又はアリールスルホニルオキシ基をカルボニルチオ基に置換することのできる化合物 (以下、「O-置換基→S-置換基化合物」ともいう。) を反応させることにより化合物 7 が得られる。

O-置換基→S-置換基化合物には、チオカルボン酸のアルカリ金属塩およびアルカリ土類金属塩が含まれる。チオカルボン酸には、チオギ酸、並びに低級チオカルボン酸、好ましくは炭素数 1～5 の脂肪族炭化水素が置換した脂肪族チオカルボン酸 (例えば、チオ酢酸、チオプロピオン酸)、および好ましくは炭素数 6～10 の芳香族炭化水素が置換した芳

香族チオカルボン酸（例えば、チオ安息香酸）等が含まれる。

これらのチオカルボン酸と塩を形成するアルカリ金属には、カリウム、ナトリウム等が含まれ、アルカリ土類金属には、マグネシウム、カルシウム等が含まれる。

上記O-置換基→S-置換基化合物のうち、チオ酢酸の塩は、反応の安定性の点および後の工程において硫黄原子を酸化しやすい点から好ましく用いることができる。

反応に用いる有機溶媒には、アルコール、好ましくは低級アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール）、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等が含まれる。

上記反応は、通常、室温ないし用いる溶媒の沸点において、通常、1時間～1日間攪拌することにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Gのジオール化は、t-ブタノールおよび水等の溶媒混液に溶解した化合物7の溶液に、四酸化オスミウム等の酸化剤を添加し、トリメチルアミンN-オキシド等の再酸化剤を共存させ、室温で、通常、1時間～1日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Hのエステル化反応により、所望の不飽和脂肪酸がグリセロールとエステル結合したスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体を得ることができる。

この反応は、ジクロロメタン等の適当な有機溶媒に溶解し

た化合物 8 の溶液に、最終生成物に対応する不飽和脂肪酸を添加し、必要に応じて、エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド (EDCI) - DMA P 系等の適当な触媒の存在下に反応させることにより行うことができる。

工程 H の反応において、添加すべき脂肪酸としては、上述した一般式 (1) の  $R_{101}$  により表されるアシル残基を有する不飽和高級脂肪酸を用いることができる。

工程 H の反応により、化合物 9 において、 $R_{101}$  および  $R_{102}$  が、添加した不飽和高級脂肪酸のアシル残基である本発明の一般式 (1) で表されるジアシルエステルと、 $R_{101}$  のみに不飽和高級脂肪酸のアシル残基が結合したモノアシルエステルの混合物が得られる。工程 H の反応においては、所望に応じて、添加すべき不飽和高級脂肪酸を 2 種以上用いることもできる。この場合、 $R_{101}$  および  $R_{102}$  が同じアシル残基または異なるアシル残基である一般式 (1) で表されるジアシルエステルと、 $R_{101}$  が互いに異なるアシル残基であるモノエステルとの混合物が得られる。

これらのモノエステルとジエステルの混合物は、必要に応じて、例えば、クロマトグラフィーにより、各々のエステルに単離し、次の工程 I の反応に供することができる。

また、所望により、上記工程 H で得られたモノエステルに対して  $R_{101}$  のアシル残基とは別のアシル残基を有する脂肪酸を反応させることにより、 $R_{102}$  と  $R_{101}$  とが異なるアシル残基であるジエステルを得ることもできる。このさらなるエステル化の反応条件は、脂肪酸が異なること以外は、工程

Hのものと同一条件に設定することができる。

工程 I のスルホン酸塩化は、酢酸および酢酸カリウムを用いて緩衝した有機溶媒中の化合物 9 の溶液に、OXONE (2 KHSO<sub>5</sub>、KHSO<sub>4</sub>、K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、モリブデン系酸化剤 (例えば、七モリブデン酸六アンモニウム) 等の酸化剤を添加し、室温で反応させることにより行うことができる。

工程 J の C 2 ~ C 4 炭素に結合する保護基の脱保護は、用いた保護基に合った脱保護の方法で、なおかつ不飽和脂肪酸の二重結合を維持できる方法により行うことができる。例えば、シリル系の保護基の場合は、酸触媒 (例えば、トリフルオロ酢酸) で脱保護することができる。

なお、出発物質であるピラノースは溶液中で  $\alpha$ -アノマーおよび  $\beta$ -アノマーの構造をとりうるため、各工程の生成物は、 $\alpha$ -および  $\beta$ -アノマーの混合物となる。これらの混合物は、クロマトグラフィー等に従うことにより分離することができる。また、糖の種類によっては、工程 A の後にベンジリデン化することにより結晶化させて分離することもできる。

次に、本発明のスルホピラノシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも 1 種を有効成分として含有する医薬について説明する。

本発明の医薬の有効成分であるスルホピラノシルグリセロール誘導体にはピラノースがキノボース、ラムノース、フコースであるものや、ピラノースとグリセロールの結



合が  $\alpha$  結合または  $\beta$  結合の異性体、グリセロールの C 2 炭素（不斉炭素）における異性体等が含まれる。本発明の医薬は、その活性に悪影響を及ぼさない限り、これらの異性体を単独で含有することも 2 種以上の異性体の混合物を含有することもできる。

本発明において、医薬としての用途には、DNA 合成酵素阻害剤および制癌剤が含まれる。

本発明の医薬において用い得る薬学的に許容される塩には、例えば、ナトリウムおよびカリウムのような一価の陽イオンの塩が含まれるが、これらに限定されるものではない。以下、本発明のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群の化合物を「本発明の医薬活性物質」ともいう。

本発明の医薬活性物質は、例えば、経口投与、非経口投与することができる。本発明の医薬活性物質は、これらの投与経路に応じて、適切な薬学的に許容される賦形剤又は希釈剤等と組み合わせることにより薬学的製剤にすることができる。

経口投与に適した剤型としては、固体、半固体、液体又は気体等の状態のものが含まれ、具体的には、錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

本発明の医薬活性物質を錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、溶液剤、懸濁剤等に製剤化するためには、それ自体は既

知の方法を用いて、本発明の医薬活性物質をバインダー、錠剤崩壊剤、潤滑剤等と混合し、さらに、必要に応じて、希釈剤、緩衝剤、浸潤剤、保存剤、フレーバー剤等と混合することにより行うことができる。一例を挙げると、上記バインダーには、結晶セルロース、セルロース誘導体、コーンスターチ、ゼラチン等が、錠剤崩壊剤には、コーンスターチ、馬鈴薯デンプン、カルボキシメチルセルロースナトリウム等が、潤滑剤には、タルク、ステアリン酸マグネシウム等が含まれ、さらには、ラクトース、マンニトール等のような従来用いられている添加剤等を用いることができる。

また、本発明の医薬活性物質は、液体、微細粉末の形態のものを、気体又は液体の噴霧剤と共に、又は必要に応じて浸潤性付与剤のような既知の助剤と共に、エアロゾル容器、ネブライザーのような非加圧容器に充填し、エアロゾル剤又は吸入剤の形態で投与することもできる。噴霧剤としては、ジクロロフルオロメタン、プロパン、窒素等の加圧ガスを用いることができる。

本発明の医薬活性物質を非経口投与する場合、例えば、直腸投与および注射等により投与することができる。

直腸投与には、例えば、坐薬として投与することができる。坐薬は、それ自体は既知の方法により、本発明の医薬活性物質を、体温で融解するが室温では固化しているカカオバター、カーボンワックス、ポリエチレングリコールのような賦形剤と混合し、成形することにより製剤化することができる。

注射による投与としては、皮下、皮内、静脈内、筋肉内等に投与することができる。これらの注射用製剤は、それ自体は既知の方法により、本発明の医薬活性物質を、植物性油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸のエステル、プロピレングリコールのような水性又は非水性の溶媒中に溶解、懸濁又は乳化し、さらに、所望により、可溶化剤、浸透圧調節剤、乳化剤、安定剤および保存料のような従来用いられている添加剤と共に製剤化することができる。

本発明の医薬活性物質を溶液、懸濁液、シロップ、エリキシル等の形態にするためには、注射用滅菌水や規定生理食塩水のような薬学的に許容される溶媒を用いることができる。本発明の医薬活性物質は、薬学的に許容される他の活性を有する化合物と併用して薬学的製剤とすることもできる。

本発明の医薬活性物質は、投与形態、投与経路、対象とする疾病の程度や段階等に応じて適宜投与量を設定、調節することができる。一例を挙げると、経口投与する場合は、医薬活性物質として、 $1 \sim 10 \text{ mg/kg}$  体重/日、注射剤として投与する場合は、医薬活性物質として、 $1 \sim 5 \text{ mg/kg}$  体重/日、直腸投与する場合は、医薬活性物質として、 $1 \sim 5 \text{ mg/kg}$  体重/日に設定することができるが、これらに限定されるものではない。

本発明の医薬活性物質を制癌剤として用いる場合、本発明の医薬活性物質が効果を奏することのできる癌には、悪性腫瘍としての性質を有するものが含まれ、例えば、ヒトを含むほ乳類の腺癌、上皮癌、肉腫、神経膠腫、黒色腫、リンパ腫

等のような固形癌、および白血病等のような液性癌がある。

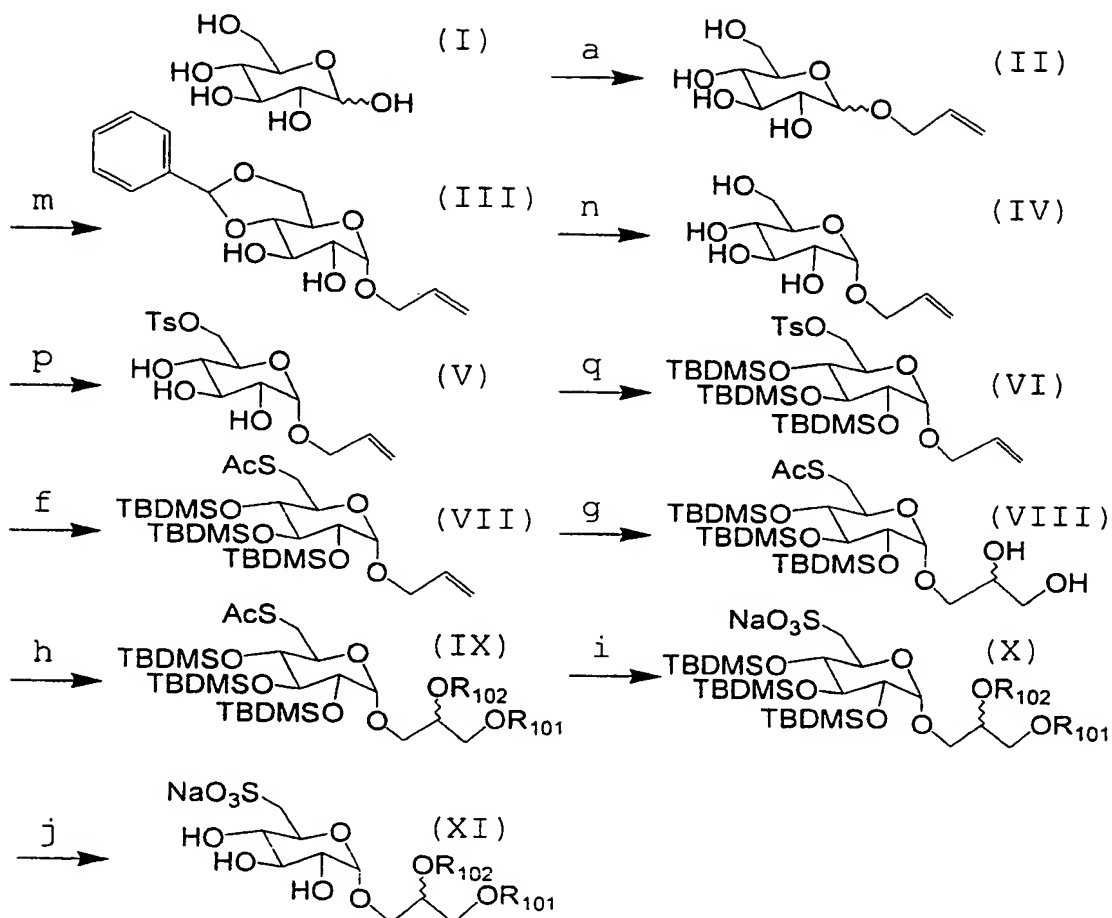
#### 実施例

以下、本発明を例を挙げて説明する。しかしながら、本発明は、これらの例に限定されるものではない。

#### < 合成例 >

本発明のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体の製造工程を、スルホキノボシルアシルグリセロール $\alpha$ 誘導体を例にあげて次のスキーム2に示す。

## スキーム 2



Ts=トシル基、TBDMS=t-ブチルジメチルシリル基、AcS=アセチルチオ基、  
 R<sub>101</sub>は不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表す。  
 R<sub>102</sub>は水素原子または不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表す。

## 反応条件

- a; アリルアルコール、トリフルオロメタンスルホン酸、80℃
- m; ベンズアルデヒド、塩化亜鉛、室温
- n; 酢酸、水、100℃
- p; トルエンスルホンクロリド、ジメチルアミノピリジン、ピリジン、室温
- q; t-ブチルジメチルシリルトリフルオロメタンスルホン酸、2,6-ルチジン、ジクロロメタン、室温
- f; チオ酢酸カリウム、エタノール、還流
- g; 四酸化オスミウム、トリメチルアミンN-オキシド二水和物、t-ブタノール、水、室温
- h; 脂肪酸、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDCI)、ジクロロメタン、室温
- i; OXONE、氷酢酸、酢酸カリウム、室温
- j; 酢酸、テトラヒドロフラン、トリフルオロ酢酸、水、室温

上記スキーム 2 は、前述したスキーム 1 の工程 B ～工程 E を除いてスキーム 1 と同様のものである。すなわち、スキーム 2 ではスキーム 1 の工程 B の代わりに化合物 II とベンズアルデヒドを反応させることによりベンジリデン誘導体を得る（工程 m）。この反応により  $\alpha$ -アノマーを結晶化させ分離することができる。

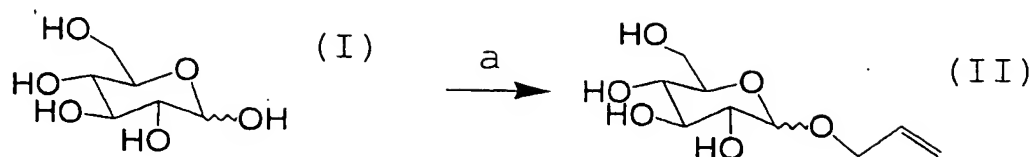
スキーム 2 の反応では、工程 p で C 6 炭素に p-トルエンスルホンクロリドを反応させトシル基を結合させた後、C 2、3、4 炭素を t-ブチルジメチルシリル基で保護する（工程 q）経路を採用している。この場合、トシル基の安定性の観点から、スキーム 1 の反応における C 6 炭素のアルキル基または置換シリル基による保護（工程 B）、脱保護（工程 D）の工程を省略することができる。

また、工程 h によりモノエステルとジエステルの混合物が得られ、これをクロマトグラフィーにより分離し、それぞれを工程 i に供することができる。

#### < 例 1 >

経路 a ; 1-0-(2-プロペニル)-D-グルコース (II)

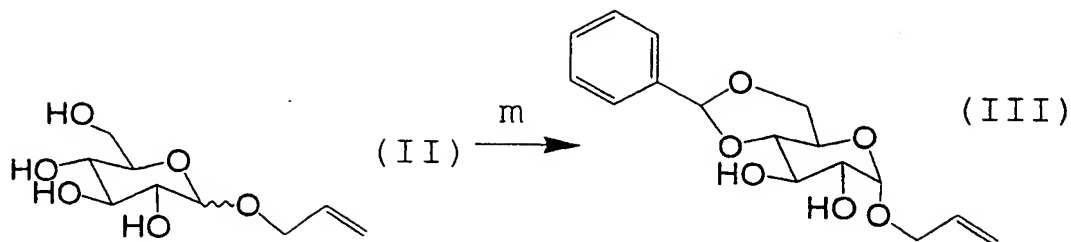
D-グルコース (I) 100 g をアリアルアルコール 250 mL に加え十分に溶解し、その溶液に氷冷下にてトリフルオロメタンスルホン酸 0.8 mL を徐々に添加した。その後油浴下 80℃ で攪拌しながら 30 時間反応させた。反応が十分進行した段階でトリメチルアミン 1 mL で中和した後、減圧濃縮した。薄層クロマトグラフィーで 60～70% の収率を確認した。



経路 m ; 1-0-(2-プロペニル)-4,6-0-ベンジリデン- $\alpha$ -D-グルコース (III)

化合物 (II) 37.5 g をベンズアルデヒド 210 mL に加え十分に溶解し、その溶液に塩化亜鉛 98 g を添加し、室温にて 4 時間反応させた。その後、反応液をヘキサン 500 mL に加え、さらに希炭酸水素ナトリウム溶液 100 mL を添加し、0℃、30 分間放置し、結晶化させた。結晶を吸引濾過後、エタノール 50 mL に溶解し、0℃、30 分間放置し、再結晶化させた。  
(収量 21 g 68.1 mmol、収率 40.0%)

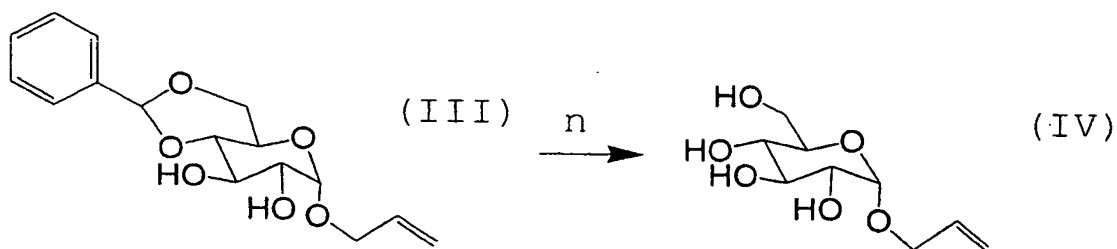
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz、 $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ ) ; 7.51 ~ 7.49 (2H、m、Ar)、7.38 ~ 7.33 (3H、m、Ar)、5.98 ~ 5.85 (1H、m、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.51 (1H、s、Ar- $\text{CH}$ )、5.31 (1H、d、 $J=1.5 \& 15.9$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.23 (1H、dd、 $J=1.2 \& 10.4$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、4.90 (1H、d、 $J=3.9$ 、H-1)、4.28 ~ 4.19 (2H、m、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、4.06 ~ 4.00 (1H、m、H-5)、3.93 (1H、t、 $J=9.3$ 、H-3)、3.87 ~ 3.78 (1H、m、H-6a)、3.70 (1H、t、 $J=10.2$ 、H-2)、3.60 (1H、dd、 $J=3.8 \& 9.2$ 、H-6b)、3.47 (1H、t、 $J=9.3$ 、H-4)



経路 n ; 1-O-(2-プロペニル)-α-D-グルコース (IV)

化合物 (III) 10.7 g (34.7 mmol) を酢酸 : 水 = 8 : 5 の溶液 260 mL に溶解し、100℃、1時間反応後、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ジクロロメタン : メタノール = 6 : 1) で精製した。(収量 6.3 g 28.6 mmol、収率 82.4%)

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD} + \text{TMS}$ ) ; 5.92 ~ 5.79 (1H, m,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.26 ~ 5.18 (1H, m,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.07 ~ 5.03 (1H, m,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、4.23 ~ 3.23 (7H, m)



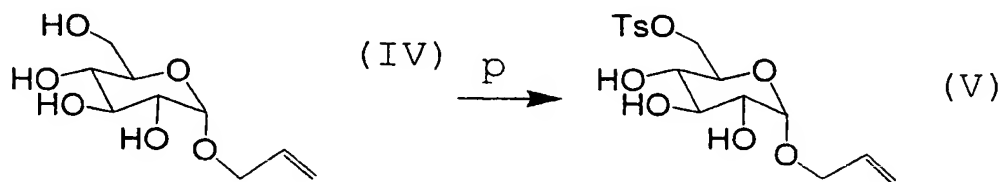
経路 p ; 1-O-(2-プロペニル)-6-O-(4-トリルスルホンル)-α-D-グルコース (V)

化合物 (IV) 6.3 g (28.6 mmol) を乾燥ピリジン 200 mL に溶解し、p-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 195 mg、p-トルエンスルホンクロリド 7.0 g を添加し、攪拌しながら室温で 16 時間反応した。その後、冷蒸留水 20 mL を加えて反応



を停止し、酢酸エチルで抽出(200 mL×3回)し、有機層を合わせて1.0 Mおよび0.1 M塩酸でpH4まで中和し、飽和食塩水で洗浄(200 mL×2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ジクロロメタン:メタノール=20:1)で精製した。(収量8.6 mg 23.0 mmol、収率83.8%)

$^1\text{H}$  NMR(300 MHz、 $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ ) ; 7.77(2H、d、 $J=8.3$ 、TsCH<sub>3</sub>側のAr)、7.30(2H、d、 $J=8.1$ 、TsSO<sub>2</sub>側のAr)、5.90~5.77(1H、m、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.24(1H、dd、 $J=1.4 \& 17.2$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.11(1H、dd、 $J=1.2 \& 12.4$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、4.79(1H、d、 $J=3.3$ 、H-1)、4.38~3.38(8H、m)、2.40(3H、s、TsCH<sub>3</sub>)

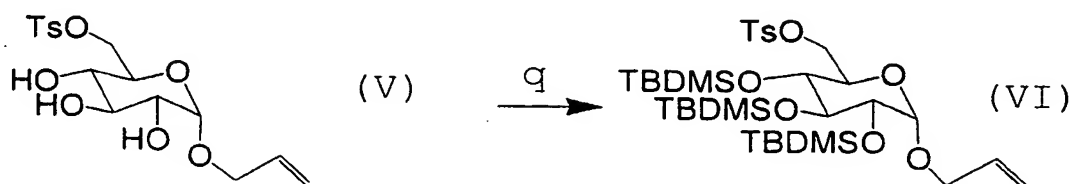


経路 q ; 2,3,4-トリ-0-(*t*-ブチルジメチルシリル)-1-0-(2-プロペニル)-6-0-(4-トリルスルホニル)- $\alpha$ -D-グルコース(VI)

化合物(V)11.2 g(29.9 mmol)を乾燥ジクロロメタン25 mLに溶解し、*t*-ブチルジメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート23.8 g、2,6-ルチジン14.4 gを添加し、窒素気流下で攪拌しながら16時間反応した。その後、ジクロロメタン150 mLを加えて反応を停止し、飽和食塩水で洗浄(100 mL×2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃

縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝30：1）で精製した。（収量19.6g 27.4 mmol、収率91.6%）

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ ) ; 7.83 (2H, d,  $J = 8.3$ , TsCH<sub>3</sub>側のAr)、7.29 (2H, d,  $J = 8.0$ , TsSO<sub>2</sub>側のAr)、5.92～5.79 (1H, m,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.21 (1H, d,  $J = 1.5 \text{ \& } 17.2$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.11 (1H, d,  $J = 10.4$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、4.67 (1H, d,  $J = 2.8$ , H-1)、4.30～3.44 (8H, m)、2.41 (3H, s, TsCH<sub>3</sub>)、0.91～0.78 (27H, m, t-BuのCH<sub>3</sub>)、0.13～-0.02 (18H, m, Si-CH<sub>3</sub>)

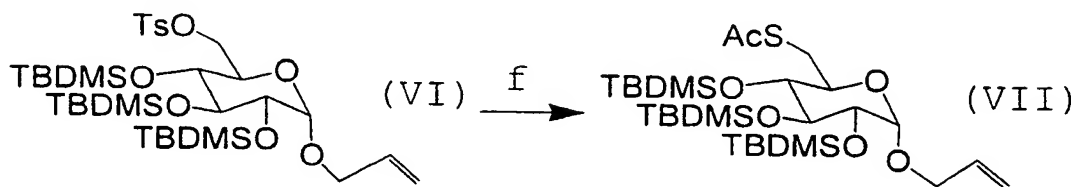


経路 f ; 2,3,4-トリ-O-(t-ブチルジメチルシリル)-1-O-(2-プロペニル)-6-デオキシ-6-アセチルチオ- $\alpha$ -D-グルコース (VII)

化合物 (VI) 7.9 g (11.0 mmol) を乾燥エタノール 20 mL に溶解し、チオ酢酸カリウム 1.8 g を添加し、還流条件下で攪拌しながら3時間反応した。その後、冷蒸留水 100 mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (200 mL  $\times$  3回) し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄 (200 mL  $\times$  2回) 後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝50：

1) で精製した。(収量 5.6 g 9.02 mmol、収率 82.0%)

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ ) ; 5.97 ~ 5.81 (1H, m,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.26 (1H, dd,  $J=1.6 \& 17.2$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、5.13 (1H, dd,  $J=1.6 \& 10.4$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ )、4.73 (1H, d,  $J=3.2$ , H-1)、4.32 ~ 3.42 (7H, m)、2.83 (1H, dd,  $J=9.8 \& 13.3$ , H-6b)、2.30 (3H, s,  $\text{SCOCCH}_3$ )、0.91 ~ 0.82 (27H, m, t-Bu の  $\text{CH}_3$ )、0.12 ~ -0.03 (18H, m, Si- $\text{CH}_3$ )

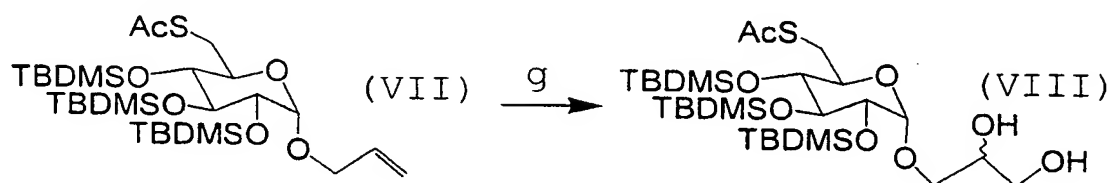


経路 g ; 3-O-[2,3,4-トリ-O-(t-ブチルジメチルシリル)-6-デオキシ-6-アセチルチオ- $\alpha$ -D-グルコピラノシル]-グリセロール (VIII)

化合物 (VII) 5.6 g (9.02 mmol) を t-ブタノール : 水 = 4 : 1 溶液に溶解し、トリメチルアミン N-オキシド二水和物 1.5 g、四酸化オスミウム-t-ブタノール溶液 (0.04 M) 15 mL を添加し、攪拌しながら室温で 22 時間反応した。その後活性炭 15 g を加え、攪拌しながら室温で 1.5 時間放置し、四酸化オスミウムを吸着させた後、吸引濾過した。次に冷蒸留水 200 mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (200 mL  $\times$  3 回) し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄 (300 mL  $\times$  2 回) 後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル

= 3 : 1 → 2 : 1) で精製した。(収量 5.2 g 7.94 mmol、収率 88.0%)

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ ) ; 4.73 (1H, m, H-1 (R および S)), 4.12 ~ 3.40 (10H, m), 2.86 (1H, dd,  $J = 9.2 \& 13.6$ , H-6b), 2.32 (3H, s,  $\text{SCoCH}_3$ ), 0.88 ~ 0.79 (27H, m, t-Bu の  $\text{CH}_3$ ), 0.08 ~ -0.03 (18H, m, Si- $\text{CH}_3$ )

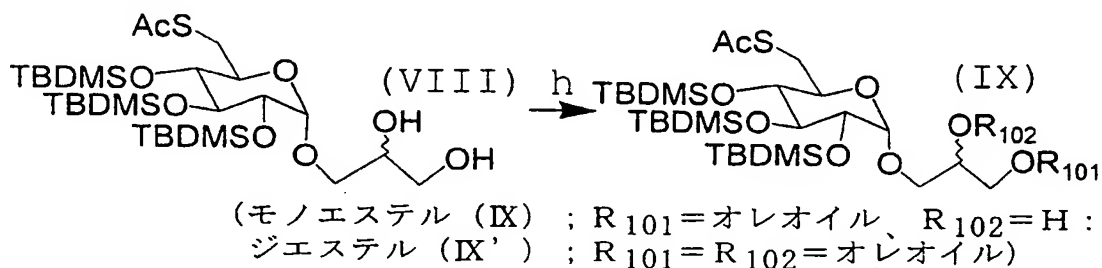


経路 h ; 3-0-[2,3,4-トリ-0-(t-ブチルジメチルシリル)-6-デオキシ-6-アセチルチオ- $\alpha$ -D-グルコピラノシル]-1-0-オレオイル-グリセロール (IX) および 3-0-[2,3,4-トリ-0-(t-ブチルジメチルシリル)-6-デオキシ-6-アセチルチオ- $\alpha$ -D-グルコピラノシル]-1,2-ジ-0-オレオイル-グリセロール (IX')

化合物 (VIII) 1.37 g (2.09 mmol) を乾燥ジクロロメタン 20 mL に溶解し、EDCI 600 mg、DMAP 26 mg、オレイン酸 660 mg を添加し、攪拌しながら室温にて 16 時間反応した。その後ジクロロメタン 200 mL を加え反応を停止し、飽和食塩水で洗浄 (100 mL  $\times$  2 回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 20 : 1 → 10 : 1 → 7 : 1) で精製した。(収量 ジエステル 772 mg (652  $\mu$ mol) ; モノエステル 8

95 mg (974  $\mu$ mol)、収率(双方合わせて)78.0%

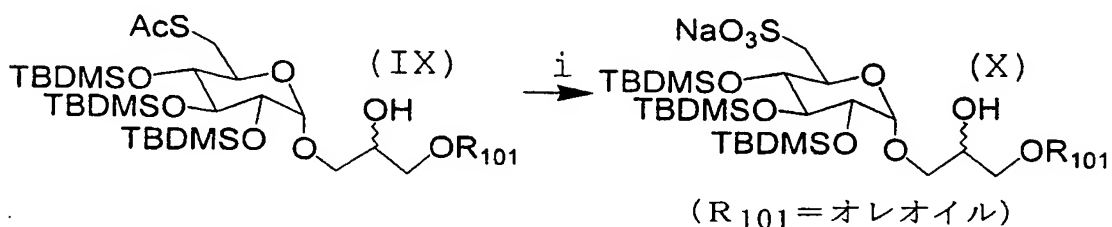
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ ) ; 5.32 ~ 5.28 (2H, m,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ )、4.68 (1H, m, H-1 (RおよびS))、3.98 ~ 3.36 (10H, m)、2.81 (1H, dd,  $J=9.5 \& 13.4$ , H-6b)、2.32 ~ 2.27 (5H, m,  $\text{OCOCH}_2$  &  $\text{SCOCOCH}_3$ )、1.98 ~ 1.93 (4H, m,  $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$ )、1.61 ~ 1.56 (2H, m,  $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$ )、1.28 ~ 1.23 (20H, br,  $-\text{CH}_2-$ )、0.88 ~ 0.79 (30H, m,  $t\text{-Bu}$ の $\text{CH}_3$  &  $\text{Acyl}$ の $\text{CH}_3$ )、0.09 ~ -0.04 (18H, m,  $\text{Si}-\text{CH}_3$ ) (モノエステルのNMR)



経路 i ; 3-O-[2,3,4-トリ-O-( $t$ -ブチルジメチルシリル)-6-デオキシ-6-スルホ- $\alpha$ -D-グルコピラノシル]-1-O-オレオイル-グリセロール・ナトリウム塩 (X)

化合物 (IX ; モノエステル) 21.4 mg (23.2  $\mu$ mol) を氷酢酸 3.5 mL に溶解し、酢酸カリウム 500 mg、OXONE 35.4 mg を添加し、攪拌しながら室温にて6時間反応した。その後冷蒸留水 15 mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (20 mL  $\times$  5回) し、有機層を合わせて飽和炭酸水素ナトリウム溶液で中和 (70 mL  $\times$  5回) 後、飽和食塩水で洗浄 (60 mL  $\times$  2回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ジクロロメタン : メタ

ノール = 50 : 1 → 20 : 1) で精製した後、高速液体クロマトグラフィー (ODS カラム、メタノール : 水 = 80 : 20) でさらに精製した。(収量 3.3 mg 3.49  $\mu$ mol、収率 15.0%)  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz、 $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ ) ; 5.16 ~ 5.14 (2H、br、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ )、4.60 (1H、br、H-1 (R および S))、4.31 ~ 2.88 (11H、m)、2.17 ~ 2.13 (2H、br、 $\text{OCOCH}_2$ )、1.82 ~ 1.80 (4H、br、 $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$ )、1.42 (2H、br、 $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$ )、1.11 (20H、br、 $-\text{CH}_2-$ )、0.72 (30H、m、t-Bu の  $\text{CH}_3$  & Acyl の  $\text{CH}_3$ )、-0.08 (18H、br、Si- $\text{CH}_3$ )

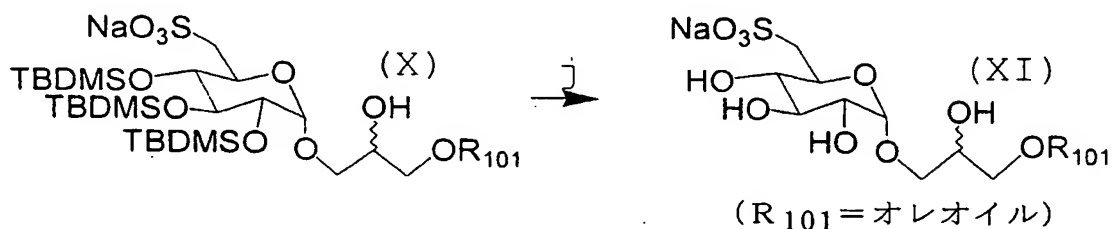


経路 j ; 3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- $\alpha$ -D-グルコピラノシル)-1-O-オレオイル-グリセロール・ナトリウム塩 (XI)

化合物 (X) 358.4 mg (378  $\mu$ mol) を酢酸 : テトラヒドロフラン : トリフルオロ酢酸 : 水 = 3 : 1 : 0.4 : 1 の溶液 7 mL に溶解し、攪拌しながら室温で 16 時間反応した。酢酸エチルで抽出 (10 mL  $\times$  3 回) し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄 (20 mL  $\times$  2 回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮後、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ジクロロメタン : メタノール = 10 : 1 → ジクロロメタン : メタノール : 水 = 65 : 25 : 4) で精製した。(収量 138.1 mg 22

9  $\mu\text{mol}$ 、収率 62.7%)

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD} + \text{TMS}$ ) ; 5.24 ~ 5.17 (2H, m,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ )、4.69 (1H, m, H-1 (R および S))、4.18 ~ 2.75 (11H, m)、2.29 ~ 2.21 (2H, m,  $\text{OCOCH}_2$ )、1.94 ~ 1.90 (4H, m,  $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$ )、1.49 (2H, br,  $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$ )、1.20 (20H, br,  $-\text{CH}_2-$ )、0.78 (3H, t,  $J=6.3$ ,  $\text{CH}_3$ )



### < 例 2 >

上記例 1 の工程 h において用いたオレイン酸の代わりに、ミリストレイン酸を用いたこと以外は例 1 と同様に工程 h ~ j の反応を行い、3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- $\alpha$ -D-グルコピラノシル)-1-O-ミリストレオイル-グリセロール・ナトリウム塩を合成した。(収量 118.7 mg、217  $\mu\text{mol}$ 、収率 59.8%)

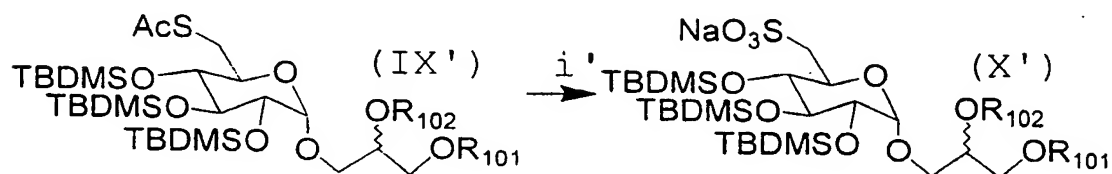
### < 例 3 >

上記例 2 と同様、オレイン酸の代わりに、パルミトレイン酸を用いることにより、3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- $\alpha$ -D-グルコピラノシル)-1-O-パルミトレオイル-グリセロール・ナトリウム塩を合成した。(収量 142 mg、247  $\mu\text{mol}$ 、収率 67.7%)

## &lt; 例 4 &gt;

上記例1の化合物 (IX) から化合物 (X) を製造する経路 i において、化合物 (IX : モノエステル) の代わりに化合物 (IX' : ジエステル) を、また、OXONE の代わりにモリブデン系酸化剤を使った例を示す。

化合物 (IX' : ジエステル) 13.1 mg (11.0  $\mu$ mol) をジクロロメタン 0.5 mL およびメタノール 0.5 mL に溶解し、30% 過酸化水素水に 0.06 M セモリブデン酸六アンモニウム四水和物  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  を溶解した溶液を 50  $\mu$ L 添加して 50 時間室温にて攪拌した。その後反応液に酢酸エチル 10 mL を加え、飽和炭酸水素ナトリウム溶液 (5 mL  $\times$  2 回) および飽和食塩水で洗浄 (5 mL  $\times$  2 回) 後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ジクロロメタン : メタノール = 50 : 1  $\rightarrow$  10 : 1) で精製し、無色油状物質を得た。(収量 7.8 mg 6.4  $\mu$ mol、収率 58.2%)



(R<sub>101</sub> = R<sub>102</sub> = オレオイル)

本発明の一般式 (1) で表される化合物についての生理学的アッセイを行った。

## &lt; アッセイ 1 &gt;

DNA 合成酵素  $\alpha$  型に対する阻害効果検定を次の方法により



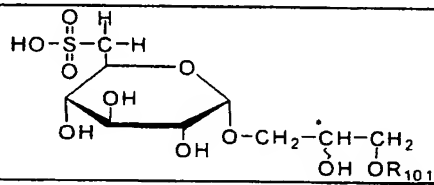
行った。

ウシ胸腺から抗体カラムによって単一に精製されたDNA合成酵素 $\alpha$ 型0.05Uおよび被験化合物(DMSOに溶解した、下記表1に示すスルホピラノシルグリセロール誘導体(以下、「SQAG」と省略する)SQAG1、SQAG2、SQAG3をそれぞれ混合し、更に酵素反応に必要な無機塩類緩衝液、 $[^3\text{H}]$ ラベルされたdTTP、鋳型DNA鎖を含む反応用コンパウンドを加え、37℃で60分間インキュベートした。

酵素反応を止めた後、反応後生成物を専用フィルターに定着させ、液体シンチレーションカウンターにより測定した。酵素合成されたdTTP量を、 $[^3\text{H}]$ 放射線量(cpm)として結果を算出した。なお、用いたスルホピラノシルグリセロール誘導体は、何れも、グリセロールの2位の炭素における絶対配置がSであるものとRであるものの混合物である。

得られた結果をIC<sub>50</sub>として次の表1に併せて示す。

表1：DNA合成酵素 $\alpha$ 型に対する阻害効果

		DNA合成酵素 阻害活性
化合物	R <sub>101</sub>	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
SQAG1 (14:1)	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -(CH=CH-CH <sub>2</sub> ) <sub>1</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -CO-	9.0
SQAG2 (16:1)	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -(CH=CH-CH <sub>2</sub> ) <sub>1</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -CO-	5.5
SQAG3 (18:1)	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -(CH=CH-CH <sub>2</sub> ) <sub>1</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -CO-	2.0

上記表 1 から明らかなように、試験した化合物はいずれも DNA 合成酵素  $\alpha$  型に対する有意な阻害活性を有している。

次の 2 つのアッセイにおいて用いた大腸癌および胃癌細胞は、本発明の医薬活性物質が効果を奏することのできる癌細胞の一例である。即ち、これらのアッセイは、本発明の医薬活性物質が効果を奏し得る癌細胞を限定することを意図するものではない。

#### <アッセイ 2>

大腸癌培養細胞に対する制癌テストを次の方法で行った。

大腸癌細胞 DLD-1 を、RPMI 1640 培地（10% 子ウシ血清含有）で維持、継代した。被験化合物（上記表 1 に示す化合物 SQAG2 および SQAG3）をそれぞれ培地に懸濁、希釈し、 $3 \times 10^3$  個 / ウェルの細胞と共に、96 穴シャーレで培養した。48 時間培養後、MTT アッセイ（Mosmann, T: Journal of immunological method, 65, 55-63 (1983)）を行い、生存率を比較した。

得られた結果を、図 1 のグラフに示す。

図 1 のグラフにおいて、実線で結ばれる白抜きの四角は、SQAG2 を表す。実線で結ばれる白抜きの丸は、SQAG3 を表す。

図 1 のグラフから、本発明のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体は、用いた大腸癌細胞に対する制癌活性を有することが分かる。

#### <アッセイ 3>

胃癌培養細胞に対する制癌テストを、大腸癌細胞DLD-1の代わりに胃癌細胞NUGC-3を用いた以外はアッセイ2と同じ方法で行った。

得られた結果を図1のグラフに合わせて示した。

図1のグラフにおいて、実線で結ばれる黒四角は、SQAG2を表す。実線で結ばれる黒丸は、SQAG3を表す。

図1のグラフから、本発明のスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体は、用いた胃癌細胞に対する制癌活性を有することが分かる。

#### <アッセイ4>

人癌細胞移植マウスに対するテストを次の方法で行った。

ヌードマウスBALB/cAcl-nuに、5%牛胎児血清を含むMEM培地で培養したヒト肺癌細胞A-549をマウス1匹あたり $5 \times 10^5$ 個ずつ移植した。腫瘍形成部位の大きさを定期的に計測し、 $30 \sim 50 \text{ mm}^3$ に至った時点（移植後42日目）で投与試験に供した。

試験区、対照区ともに5匹のマウスをランダムに割り当て、試験区には、 $100 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ の濃度になるようにPBSに懸濁した被験化合物（上記表1に示す化合物SQAG1、SQAG2およびSQAG3）を、対照区にはPBSを、それぞれ $100 \mu\text{L}$ ずつ3日間隔で8回投与し、毎回腫瘍形成部位の大きさを測定した。腫瘍の体積は次の式にしたがって算出した。  
腫瘍の体積＝腫瘍部位の長さ×（腫瘍部位の幅） $^2 \times 0.5$

得られた結果を、被験化合物ごとに図2（SQAG1）、図3（SQAG2）、図4（SQAG3）に示す。

各図において横軸は癌細胞移植後の飼育日数、縦軸は腫瘍の体積を表す。

いずれの被験化合物においても、対照区に比べ顕著に腫瘍の形成を抑制していることが示された。

上記投与量での試験区のマウスの状態には、対照区と比較して特に変化は認められず、対照区のマウスと同様の状態で生存していた。

#### <アッセイ 5>

体重20～22g、7週齢のメスのヌードマウスBALB/cAcl-nuに培養肺ガン細胞A-549を $5 \times 10^5$ 細胞ずつ皮下注射し、移植37日後から3日毎に腫瘍の大きさを測定した。移植43日後、ガン細胞を移植した全てのマウスにおいて腫瘍の大きさが25～35mm<sup>3</sup>に達したところで、各々のマウスを4匹ずつ7つのグループにランダムに分け、そのうち1つのグループを対照区としてPBSを100μL皮下注射した。残り6グループにはSQAG1（14：1）、SQAG2（16：1）、SQAG3（18：1）をそれぞれ体重1kg当たり4mgおよび20mgの投与量となるようにPBS 100μLに溶解して皮下注射した。注射は、ガン細胞移植43日後から64日後まで、3日毎に合計8回行った。腫瘍の大きさは、移植70日後まで3日毎に測定した。腫瘍の体積はアッセイ4と同じ方法により算出した。

得られた結果を、被試験化合物ごとに図5（SQAG1）、図6（SQAG2）、図7（SQAG3）に示す。

いずれの試験区においても、対照区に比べ顕著に腫瘍の形

成を抑制していることが示された。

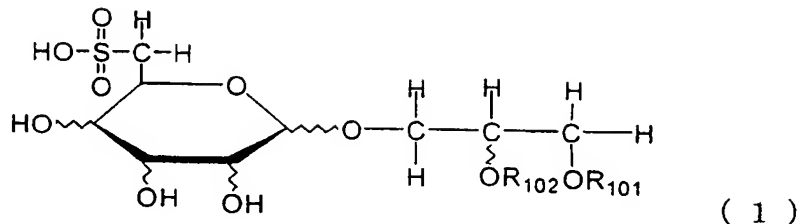
試験終了後、各々の投与区のマウスに関して、肺、心臓、胃、肝臓、脾臓、腎臓、小腸、脳など主要な臓器の病理組織学的な評価を行ったところ、どの臓器にも異常は見られなかった。

#### 産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によれば、一般式（１）により表されるスルホピラノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも１種を有効成分として含有する医薬が提供される。

## 請 求 の 範 囲

1. 次の一般式(1)：



(式中、R<sub>101</sub>は、不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表し、R<sub>102</sub>は水素原子または不飽和高級脂肪酸のアシル残基を表す。)により表される化合物およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬。

2. 一般式(1)のR<sub>101</sub>が、式：R-C(=O)- (式中、Rは炭素数13～25の、直鎖状脂肪族不飽和炭化水素基であり、当該炭化水素基には不飽和結合が1～6個含まれる。)であり、R<sub>102</sub>が水素原子又は、式：R'-C(=O)- (式中、R'は炭素数13～25の、直鎖状脂肪族不飽和炭化水素基であり、当該炭化水素基には不飽和結合が1～6個含まれる。)であることを特徴とする請求の範囲第1項に記載の医薬。

3. 一般式(1)のR<sub>102</sub>が水素原子である請求の範囲第2項に記載の医薬。

4. 一般式(1)により表される化合物のピラノースが、キノボースである請求の範囲第1項ないし第3項のいずれか1項の医薬。

5. 前記キノボースが、α-キノボースである請求の範囲第

4 項 の 医 薬。

6 . D N A 合 成 酵 素 阻 害 剤 である 請 求 の 範 囲 第 4 項 に 記 載 の  
医 薬。

7 . 制 癌 剤 である 請 求 の 範 囲 第 4 項 に 記 載 の 医 薬。

1/7

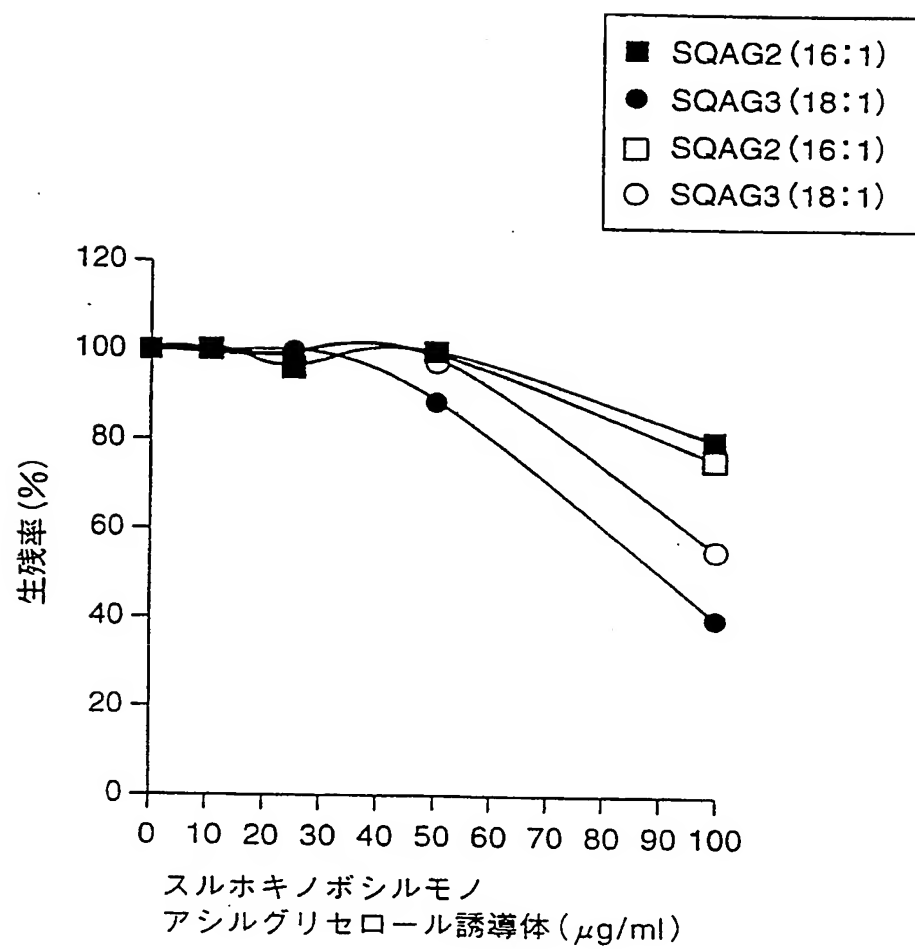


FIG. 1



2/7

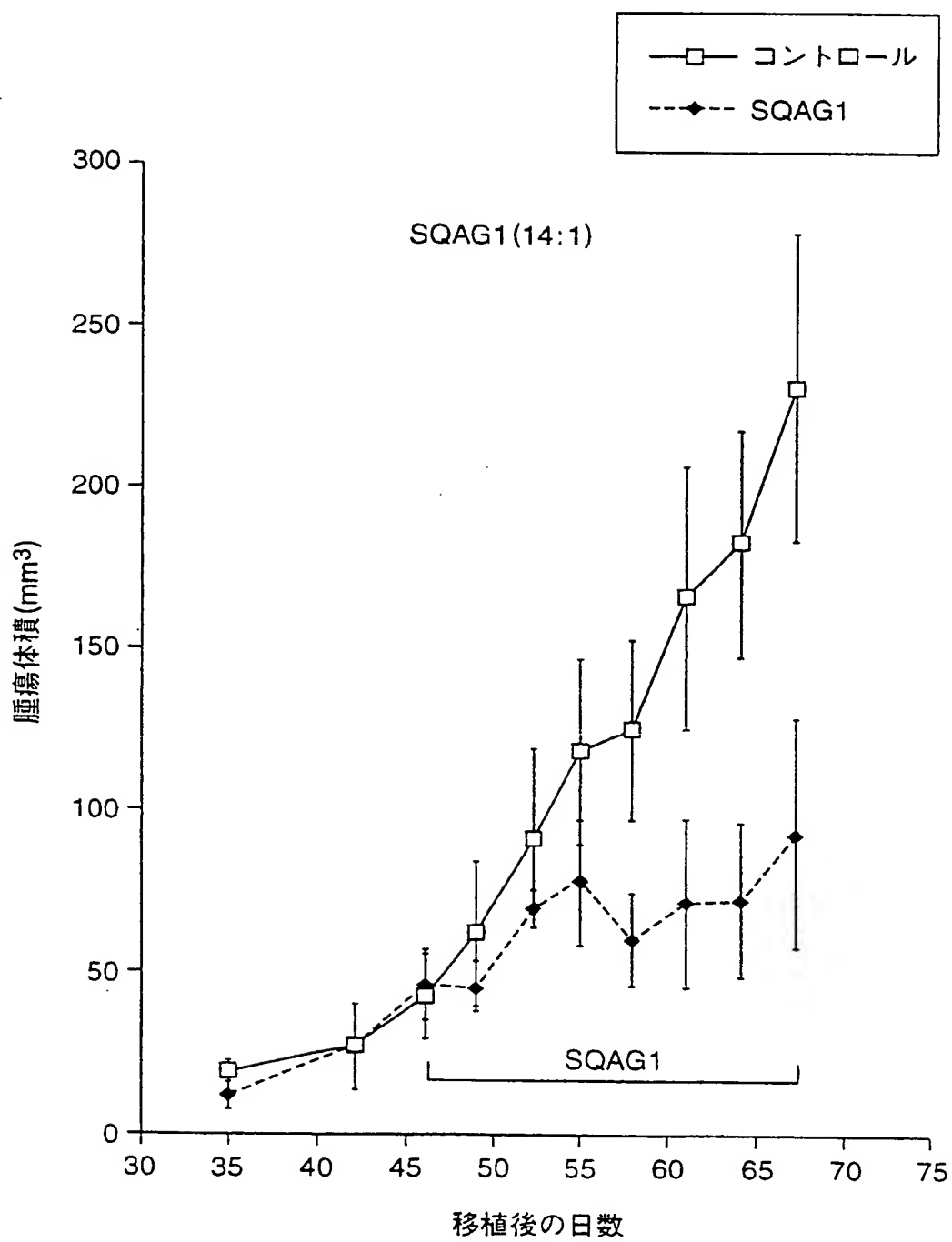


FIG. 2

3/7

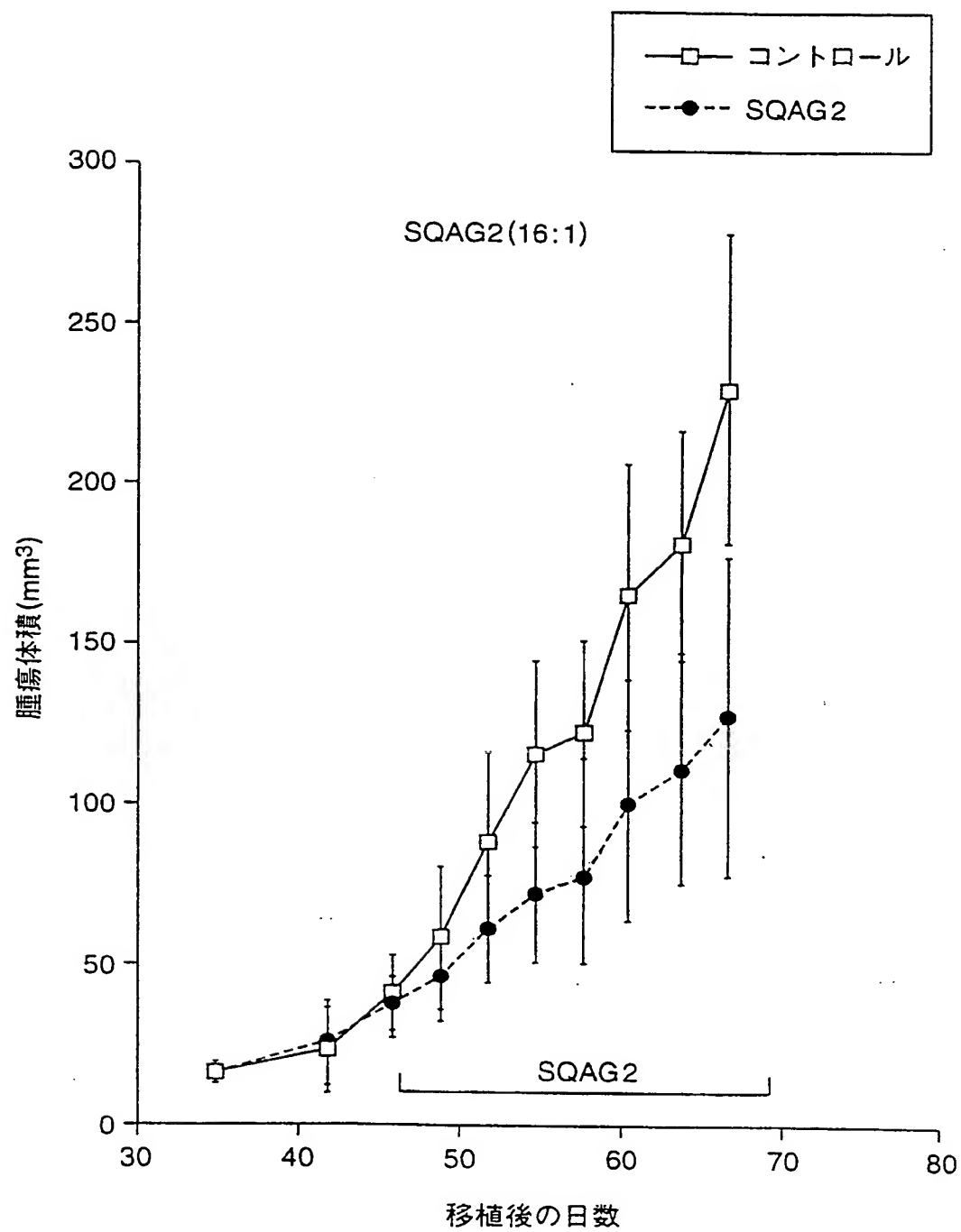


FIG. 3

4/7

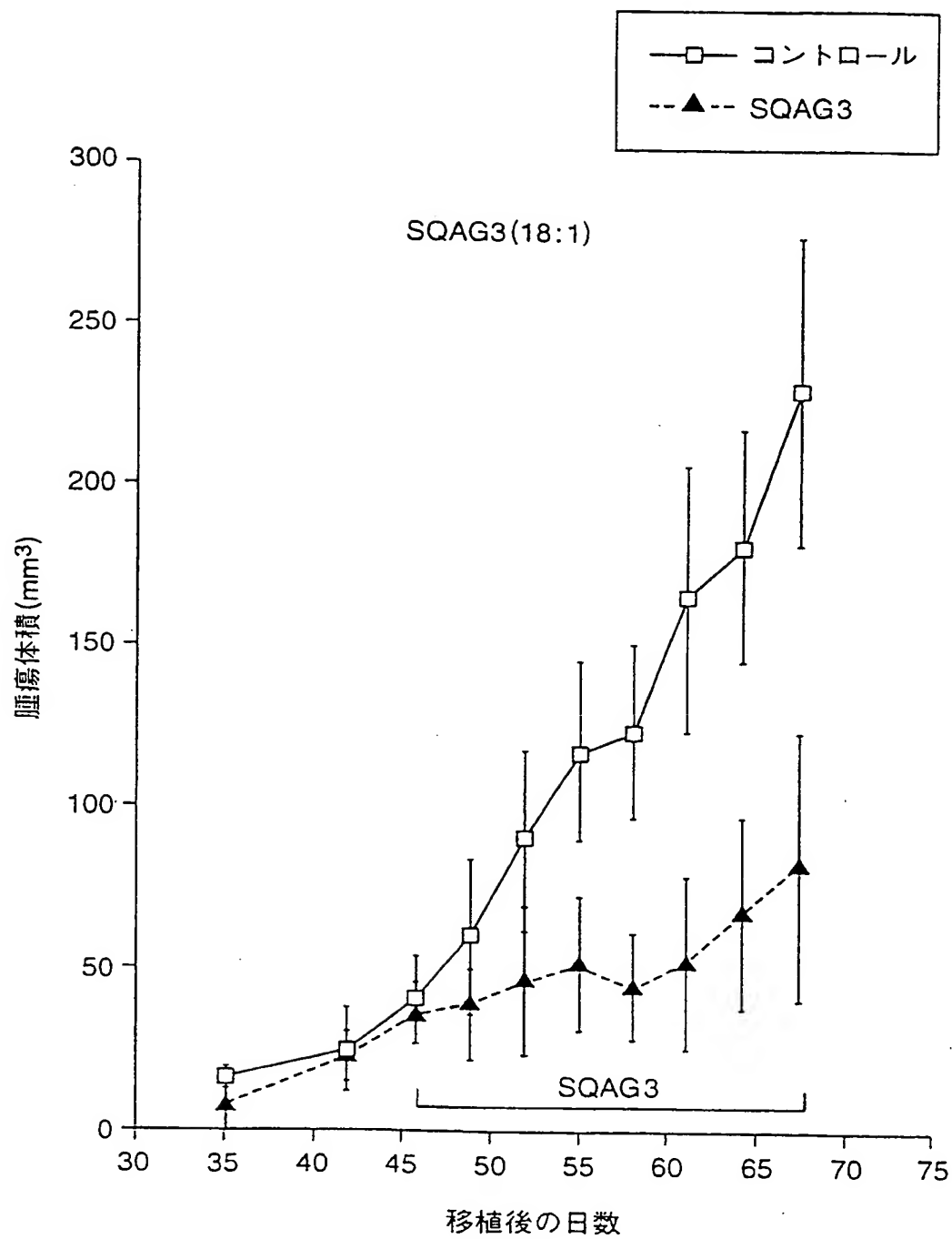


FIG. 4

5/7

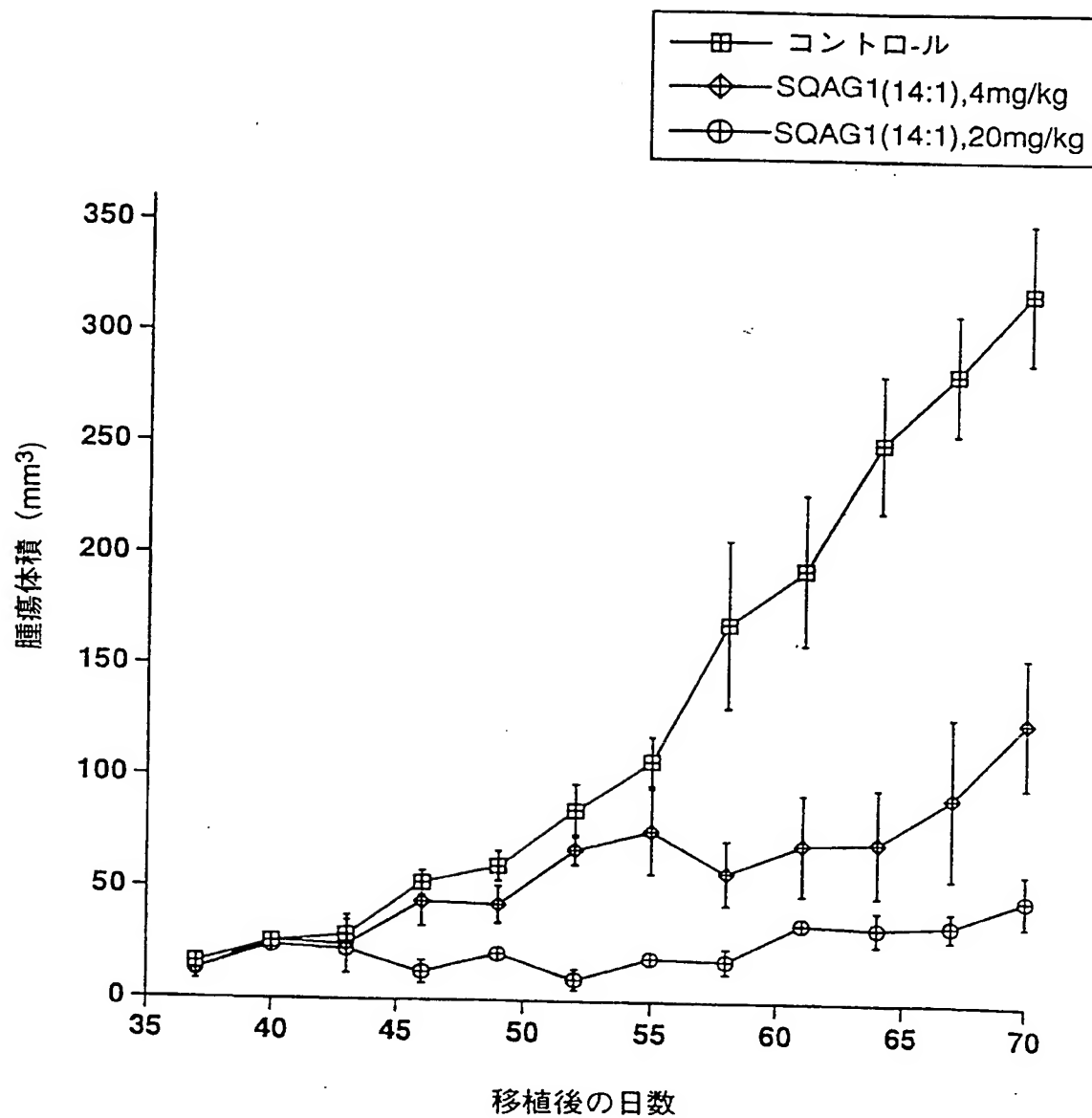


FIG. 5

6/7

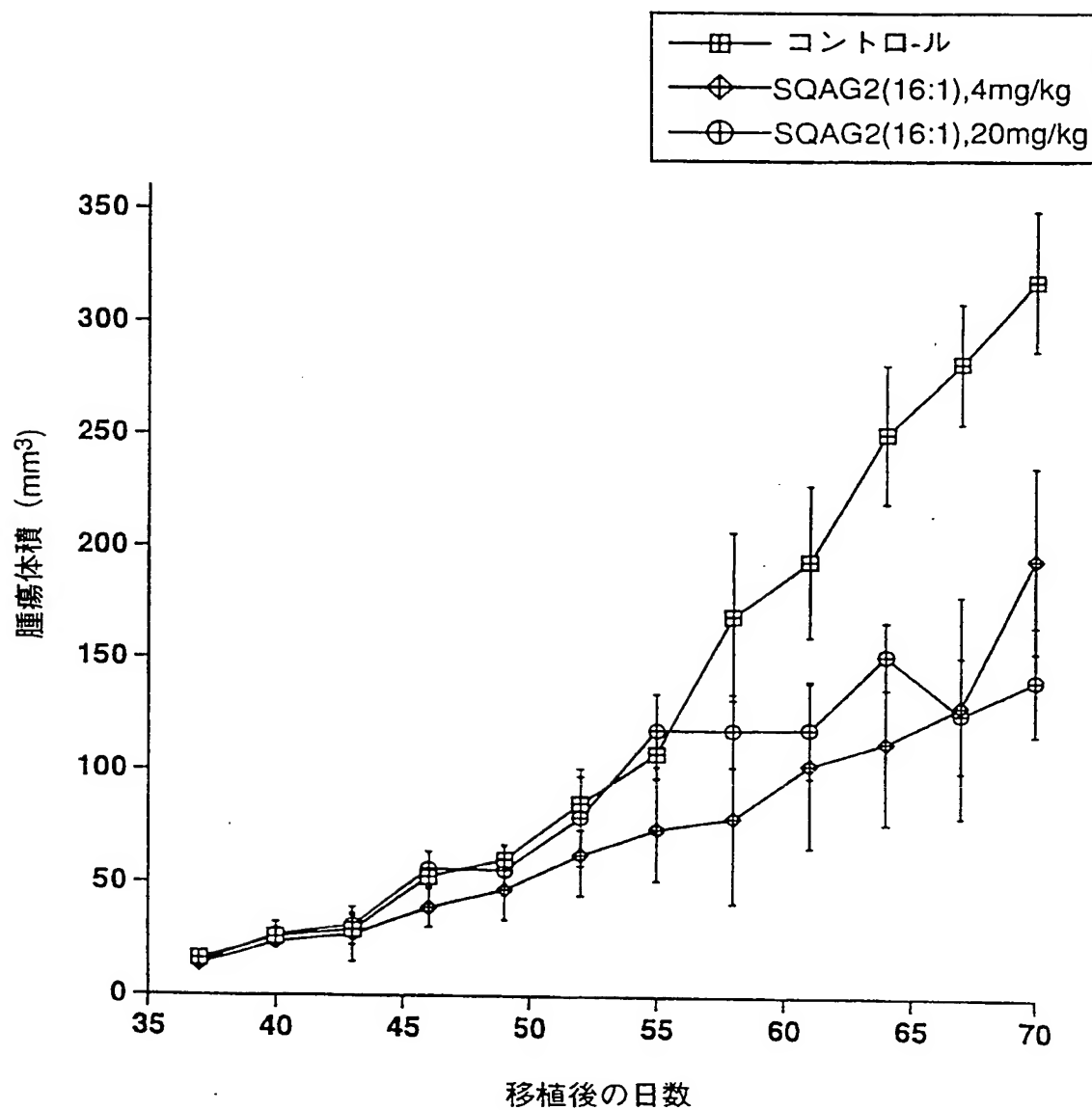


FIG. 6

7/7

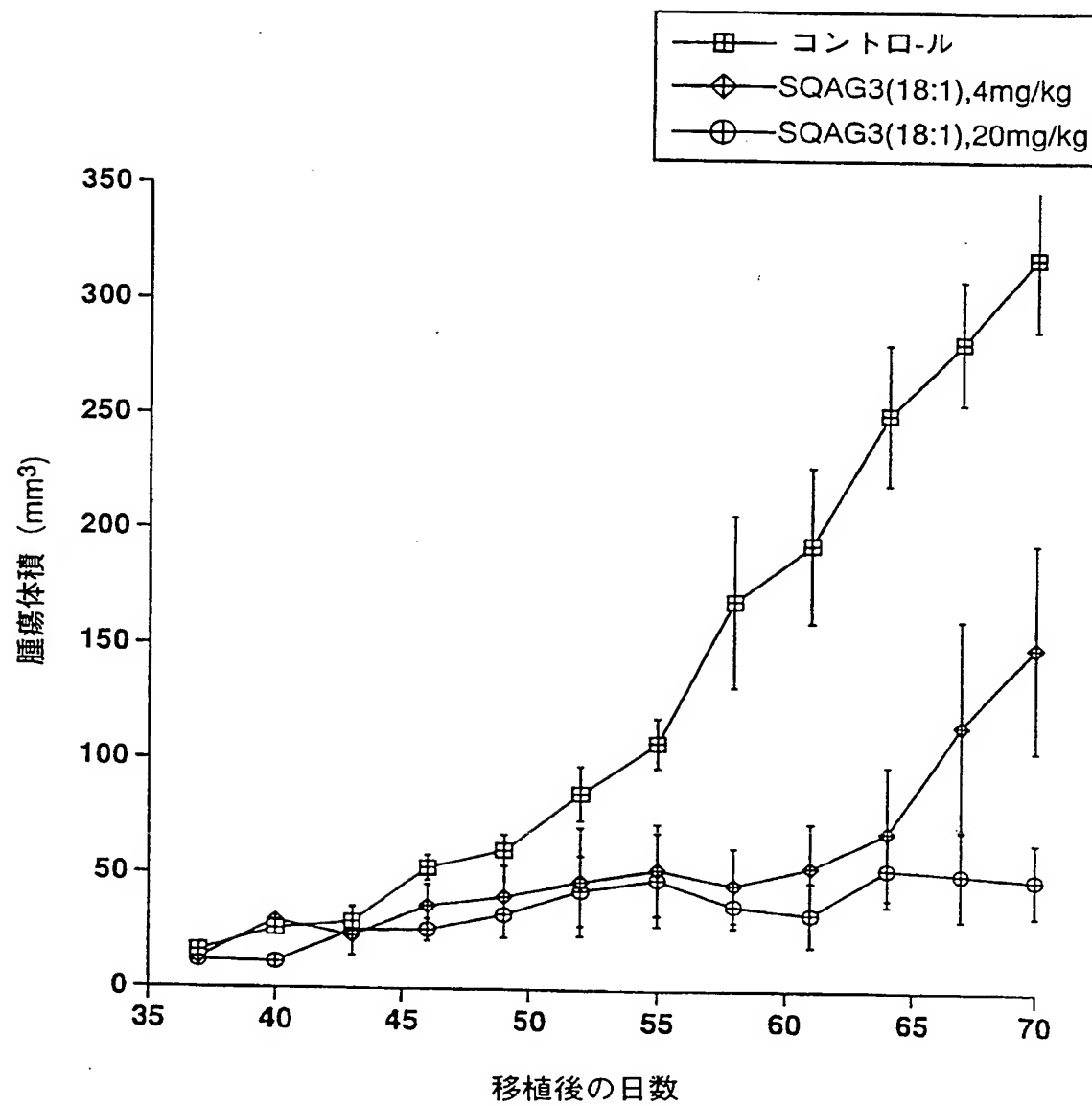


FIG. 7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00973

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K31/7032, A61P35/00, A61P43/00 111 //  
C07H15/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K31/7032, A61P35/00, A61P43/00 111,  
C07H15/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CA (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	WO, 97/40838, A1 (SCOTIA LIPIDTEKNIK AB), 06 November, 1997 (06.11.97) & AU, 9727977, A1 & EP, 952836, A1	1-5 6, 7
Y A	MICHAEL KEUSGEN, et al., "Sulfoquinovosyl Diacylglycerols from the Alga <i>Heterosigma carterae</i> ", Lipids, Vol.32, no.10 (1997) p.1101-1102	1-5 6, 7
Y A	MORIMOTO TAKASHI, et al., "Studies on Glycolipids.VII. Isolation of Two New Sulfoquinovosyl Diacylglycerols from the Green Alga <i>Chlorella vulgaris</i> ", Chem.Pharm.Bull., Vol.41, No.9 (1993) p.1545-1548	1, 2, 4, 5 3, 6, 7
Y A	LUCA RASTRELLI, et al., "Glycolipids from <i>Byrsonima</i> <i>crassifolia</i> ", Phytochemistry, Vol.45, No.4 (1997) p.647-650	1, 2, 4, 5 3, 6, 7
Y A	BYENG WHA SON, "Glycolipids from <i>Gracilaria verrucosa</i> ", Phytochemistry, Vol.29, No.1 (1990) p.307-309	1, 2, 4, 5 3, 6, 7
A	OHTA KEISUKE, et al., "Sulfoquinovosyldiacylglycerol, KM043, a New Potent Inhibitor of Eukaryotic DNA Polymerases	6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
09 May, 2000 (09.05.00)

Date of mailing of the international search report  
23.05.00

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00973

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	and HIV-Reverse Transcriptase Type 1 from Marine Red Alga, <i>Gigartina tenella</i> ", Chem. Pharm. Bull., Vol. 46, No. 4 (1998) p. 684-686	
A	MIZUSHINA YOSHIYUKI, et al., "Studies on Inhibitors of Mammalian DNA Polymerase $\alpha$ and $\beta$ ", Biochemical Pharmacology, Vol. 55 (1998) p. 537-541	6
A	SAHARA H., et al., "In vivo anti-tumour effect of 3'-sulfoquinovosyl-1'-monoacylglyceride isolated from sea urchin ( <i>Strongylocentrotus intermedius</i> ) intestine", British Journal of Cancer, Vol. 75, No. 3 (1997) p. 324-332	7
A	SHIRAHASHI HIDEAKI, et al., "Isolation and Identification of Anti-tumor-Promoting Principles from the Fresh-Water Cyanobacterium <i>Phormidium tenue</i> ", Chem. Pharm. Bull., Vol. 41, No. 9 (1993) p. 1664-1666	7



## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP00/00973

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>1</sup> A61K31/7032, A61P35/00, A61P43/00 111 //  
C07H15/06

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>1</sup> A61K31/7032, A61P35/00, A61P43/00 111,  
C07H15/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	WO, 97/40838, A1 (SCOTIA LIPIDTEKNIK AB) 6.11月.1997(06.11.97) &AU, 9727977, A1&EP, 952836, A1	1-5 6, 7
Y A	MICHAEL KEUSGEN, et al., "Sulfoquinovosyl Diacylglycerols from the Alga <i>Heterosigma carterae</i> ", Lipids, Vol. 32, no. 10(1997)p. 1 101-1102	1-5 6, 7

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.05.00

国際調査報告の発送日

23.05.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希

4P

9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	MORIMOTO TAKASHI, et al., "Studies on Glycolipids. VII. Isolation of Two New Sulfoquinovosyl Diacylglycerols from the Green Alga <i>Chlorella vulgaris</i> ", Chem. Pharm. Bull., Vol. 41, No. 9(1993) p. 1545-1548	1, 2, 4, 5 3, 6, 7
Y A	LUCA RASTRELLI, et al., "Glycolipids from <i>Byrsonima crassifolia</i> ", Phytochemistry, Vol. 45, No. 4(1997) p. 647-650	1, 2, 4, 5 3, 6, 7
Y A	BYENG WHA SON, "Glycolipids from <i>Gracilaria verrucosa</i> ", Phytoc hemistry, Vol. 29, No. 1(1990) p. 307-309	1, 2, 4, 5 3, 6, 7
A	OHTA KEISUKE, et al., "Sulfoquinovosyldiacylglycerol, KM043, a New Potent Inhibitor of Eukaryotic DNA Polymerases and HIV-R reverse Transcriptase Type 1 from Marine Red Alga, <i>Gigartina tenella</i> ", Chem. Pharm. Bull., Vol. 46, No. 4(1998) p. 684-686	6
A	MIZUSHINA YOSHIYUKI, et al., "Studies on Inhibitors of Mammalian DNA Polymerase $\alpha$ and $\beta$ ", Biochemical Pharmacology, Vol. 55 (1998) p. 537-541	6
A	SAHARA H., et al., "In vivo anti-tumour effect of 3'-sulfoquinovosyl-1'-monoacylglyceride isolated from sea urchin ( <i>Strongylocentrotus intermedius</i> ) intestine", British Journal of Cancer, Vol. 75, No. 3(1997) p. 324-332	7
A	SHIRAHASHI HIDEAKI, et al., "Isolation and Identification of Anti-tumor-Promoting Principles from the Fresh-Water Cyanobacterium <i>Phormidium tenue</i> ", Chem. Pharm. Bull., Vol. 41, No. 9(1993) p. 1664-1666	7